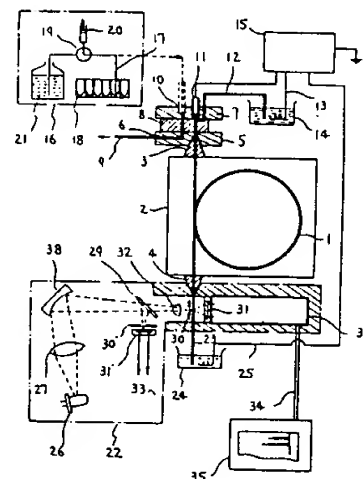


(54) CAPILLARY ELECTROPHORETIC APPARATUS

(11) 4-127049 (A) (43) 28.4.1992 (19) JP
 (21) Appl. No. 2-246963 (22) 19.9.1990
 (71) HITACHI LTD (72) MAMORU TAKI(2)
 (51) Int. Cl⁵. G01N27/447

PURPOSE: To achieve a higher sample introduction accuracy eliminating sample introduction errors caused by the type of a sample by making the sample concentrated by the application of a voltage migrate in an opposite direction to a concentration means to analyze the sample.

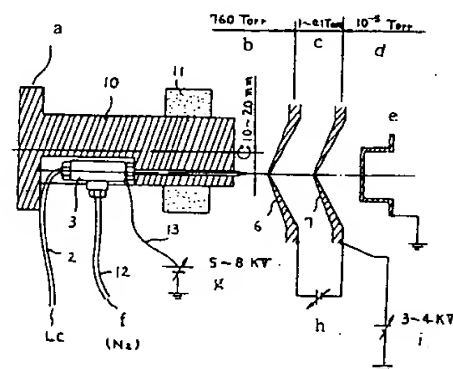
CONSTITUTION: A sample in a sample rack 18 is sucked up with a nozzle 17 and transferred to a sample injection port 10 of a sample introduction valve 5 to inject the sample and then, a rotor 8 is switched to move the sample to a closed passage between an electrode 11 and a capillary 1. Polarity of a high voltage power source 15 is adjusted so that desired components in the sample may be concentrated on the side of the electrode 11 and a specified DC voltage is applied between the sample and an electrode 25 for more than a specified time to concentrate the sample. Then, when the polarities of the electrodes 11 and 25 are inverted, the desired components move through the capillary 1 to be separated into individual components according to a speed difference of migration and reach an electrode cell 24 passing through a quartz capillary 23. At this point, light of a light source 26 passes through the capillary 23 by way of a lens 27, a spectroscopic mirror 38 and the like to detect 31 absorbance of the components. This eliminates sample introduction errors and achieves an increase in degree of concentration thereby improving analysis sensitivity.

**(54) ATMOSPHERIC PRESSURE IONIZATION MASS SPECTROGRAPH**

(11) 4-127050 (A) (43) 28.4.1992 (19) JP
 (21) Appl. No. 2-246965 (22) 19.9.1990
 (71) HITACHI LTD (72) TADAO MIMURA(1)
 (51) Int. Cl⁵. G01N27/62, H01J49/04

PURPOSE: To enable highly sensitive measurement with easier setting of a probe to a maximum sensitivity point by arranging a tip of a probe for atomizing a sample or a mobile phase to be movable horizontally, vertically and longitudinally with respect to an ion sampling fine hole.

CONSTITUTION: A sample injected into a liquid chromatography LC reaches an electrospray ion (ESI) probe 3 passing through a sample pipe 2 to be ionized and a peak intensity thereof increases gradually. At this point, a knob of a holder 10 is lifted to turn the holder 10 so that the tip of the probe 3 is decentered from the center axis of an ion sampling fine hole 6 vertically or horizontally and moreover, the tip is moved longitudinally with respect to the fine hole 6 to be set to a point at which a liquid drop flying from the tip of the probe 3 causes an ion evaporation most efficiently, namely, a highest sensitivity position. Here, the tip can be set to the highest sensitivity point checking the application of a high voltage the probe 3 being insulated, namely the peak intensity of the actual sample or the peak intensity of a background with a monitor thereby facilitating the setting.



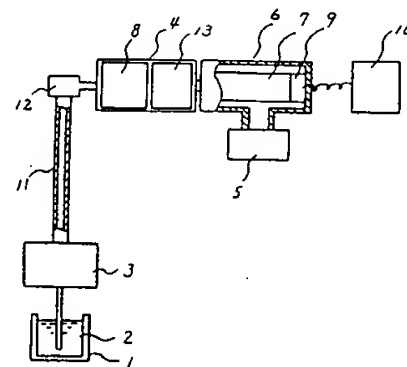
a: knob, b: ionizing section, c: intermediate pressure part, d: analysis section, e: electrostatic lens, f: nebulizer, g: ESI high voltage source, h: drift power source, i: ion acceleration power source

(54) LIQUID CHROMATOGRAPHIC MASS SPECTROMETER

(11) 4-127051 (A) (43) 28.4.1992 (19) JP
 (21) Appl. No. 2-246988 (22) 19.9.1990
 (71) HITACHI LTD (72) FUMIHIKO NAKAJIMA
 (51) Int. Cl⁵. G01N27/62, G01N30/72, H01J49/04, H01J49/26

PURPOSE: To enable the securing of higher sensitivity and long-term stability by using a separation film as transporting means of a mobile phase mixed with a sample to improve the concentration of the sample without providing any complicated mechanism.

CONSTITUTION: An ultrafilter with a fraction mass number of 500 as one of separation films is used as a transporting means 11 to transport a mobile phase 2 mixed with a sample to a coupling means 4 with an LC pump 3 while a pressure control valve 12 is provided to act as a pressure resistance to maintain a pressure in the transporting means 11 during the pressurization with the pump 3. As a result, as compared with the supply to the transporting means 11 of all of the mobile phase 2 transported from the pump 3, about 90% of water of the mobile phase 2 is filtered and discharged outside the transporting means 11 to improve the concentration of the sample, which allows an output from an ion detector 9 about ten times more than that would be when this separation film is not used. Thus, the concentration of the sample can be improved about ten times as intact in a liquid phase without adding any complicated mechanism and long-term stability can be secured sufficiently free from maintenance.



⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A) 平4-127049

⑬ Int. Cl.⁸

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 平成4年(1992)4月28日

G 01 N 27/447

7235-2 J G 01 N 27/26
7235-2 J

3 3 1 Z
3 3 5 D

審査請求 未請求 請求項の数 2 (全5頁)

⑮ 発明の名称 キヤピラリー電気泳動装置

⑯ 特 願 平2-246963

⑰ 出 願 平2(1990)9月19日

⑱ 発 明 者 滝 守 東京都国分寺市東恋ヶ窪1丁目280番地 株式会社日立製作所中央研究所内

⑲ 発 明 者 釜 堀 政 男 東京都国分寺市東恋ヶ窪1丁目280番地 株式会社日立製作所中央研究所内

⑳ 発 明 者 渡 辺 吉 雄 東京都国分寺市東恋ヶ窪1丁目280番地 株式会社日立製作所中央研究所内

㉑ 出 願 人 株式会社日立製作所 東京都千代田区神田駿河台4丁目6番地

㉒ 代 理 人 弁理士 小川 勝男 外2名

明 細 書

1. 発明の名称

キヤピラリー電気泳動装置

2. 特許請求の範囲

1. 試料を導入する手段と、電圧を印加することにより導入された該試料を泳動させて濃縮する手段と、濃縮された該試料を該濃縮手段と逆方向に泳動させて分析する手段を有することを特徴とするキヤピラリー電気泳動装置。

2. 互いに近接して可動できる固定部と可動部からなり、これらには互いに口端が合致できるような貫通孔が設けて、該貫通孔に試料を導入する手段を有し、該固定部と該可動部を移動させて該貫通孔を互いに接合または切り離すことによつて該貫通孔内の該試料と電気泳動用溶液を接触させることが可能な試料導入装置を設けたことを特徴とする請求項第1項記載のキヤピラリー電気泳動装置。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は電気泳動装置、特にその試料導入装置及び方法に関する。

(従来の技術)

キヤピラリー電気泳動に用いられているキヤピラリーチューブの内径は100 μ m以下のものが多く、大量の試料を導入すると分離の行なわれるチューブの後方まで試料が導入され、分離能の低下を起こす。そのため、一般に使用されている試料量は数n μ lと極めて微量であり、これを容易に実現できる方法が採用されている。即ち、試料導入法としては、電気泳動を利用した電気泳動法、及び試料導入位置と電極槽位差間に差をつけることによる重力差を利用した落差法がある。これらの方法においては数秒と短い時間制御で、試料導入量を決めている。以上のことは、アナリティカル・ケミストリー、60、(1988年)第642頁から第648頁(Analytical Chemistry, 60(1988)P.P.642-648)において論じられている。

(発明が解決しようとする課題)

上記従来技術の電気泳動法においては、試料の種類による泳動速度の違い、落差法においても、試料及びパツプアーの種類による粘性の違い点についての配慮がなされておらず、試料またはパツプアーの違いにより試料導入量に誤差を生じ、その上数 μg の極微量の試料を導入するためには、試料導入時間が数秒と短かく時間制御が困難で、試料導入精度が悪い問題があった。さらに、試料量が数 μg と極微量であるという点についての配慮がなされておらず、低濃度試料の分析が困難である問題があった。

本発明の目的は、試料の種類による試料導入誤差をなくし、試料導入精度を向上させることにある。

本発明の他の目的は、低濃度試料の分析を容易に可能にすることにある。

〔課題を解決するための手段〕

上記目的を達成するために、上記従来技術で使用する数 μg と比較し、数百 μg から数十 μg と大量な試料量を試料導入装置で計量するために、

リー1の両端がカセット2に設けたテーパ状の突起を有する接続部3、4の中心に固着してある。その一方の接続部3にはテーパ状の窪みを有する試料導入弁5が接続してある。該試料導入弁5は、二つのステータ6、7の間にロータ8を設け、ステータ6側にはテーパ状の上記窪みと排出口9を設け、他方のステータ7側には試料注入口10と電極11及び配管12を設け、ロータ8には二つのステータ6、7間を接続する二つの細孔（一方が試料計量管。詳細は第2図で説明）と連通管が設けてある。該ステータ7の配管12の端部には電極槽14とその電極13を接続し、これらの電極11及び13は高電圧電源15に接続してある。また、該ステータ7の試料注入口10には、オートサンブラ16のノズル17が試料注入時及び洗浄時のみ接続する。該オートサンブラ16はサンプルラック18、ノズル17、三方弁19、分注ポンプ20、洗浄液21が設けてある。該キャピラリー1の他の接続部4にはテーパ状窪みの接続部を有する検出器22のフローセル部を形成させ

試料の種類による試料導入誤差及び極微量の試料による計量誤差をなくし、試料導入精度を大きく向上したものである。

さらに、試料導入装置で計量した試料をキャピラリーに導入するのに適した試料量に減少するため、また低濃度試料の高感度分析を容易に可能にするために、分析と逆方向に電圧を印加して、電気泳動を用いて試料の濃縮をしたものである。

〔作用〕

本発明では、数百 μg から数十 μg と大量な試料を試料導入装置で計量を行なった後、電圧を一定時間以上印加することになる電気泳動により、試料の濃縮を行なっている。それによつて、試料の種類による試料導入量誤差がなくなり、試料導入量精度が向上し、さらに濃縮により低濃度試料の分析も容易になり、高感度が達成できる。

〔実施例〕

本発明の一実施例を第1図により説明する。キャピラリー電気泳動用フューズドシリカのキャピラリー1はカセット2の中に収納し、該キャピラ

リ23が接続してある。石英キャピラリー23の端部には電極槽24と高電圧電源15に接続した電極25とが接続してある。該検出器22には、光源26、レンズ27、分光ミラー28、ハーフミラー29、スリット30、30'、フォトダイオード31、31'、レンズ32、電子回路33が設けてある。該検出器22の信号線34を記録計35等に接続させ、本発明の装置が構成されるのである。各部の主要な材料等は四フツ化エチレン樹脂等を用いた。

本実施例の装置の動作について説明する。オートサンブラ16はサンプルラック18中の試料を分注ポンプ20で三方弁19を介してノズル17に吸引する。次には該ノズル17を試料導入弁5の試料注入口10へ移送し、試料を注入する。その後、ロータ8を切換えて試料を電極11とキャピラリー1の間の閉じられた流路に移動させ、試料中の目的成分を電極11側に濃縮させる際に高電圧電源15の極性を合わせ、他方の電極25との間に例えば20KV等の所定の直流電圧を例え

ば20秒等の所定の時間以上にわたって印加し、目的成分の電荷を利用して試料の濃縮が十分に完了する。次に、各電極11, 25の極性を反転させると、試料中の目的成分はキャピラリー1の中を移動し、各成分の電気泳動速度の差等によつて各成分に分離され、検出器22の石英キャピラリー23の中を通り、電極槽24に至るのである。その時、検出器22の光源26の光がレンズ27、分光ミラー28、ハーフミラー29、レンズ32、スリット30、石英キャピラリー23を通り、各成分の吸光度をフोटダイオード31で検出し、電気的に変換されて電子回路33により増幅された信号を記録計35等に表示するのである。この一連の分析が終了した後、試料導入弁5を初期の位置に戻し、電極槽14側からポンプ等(図示せず)で送液し、流路を洗浄することが可能である。また、目的成分以外の成分の溶出が遅い場合には、試料導入弁5を分析中に切換えることによつて、溶出の遅い成分をオートサンプラ16の洗浄液で試料導入弁の試料計量管の洗浄と共に洗い流すこ

10に接続され、試料が試料導入弁5に注入され、ロータ8の試料計量管39に満たされ、過剰の試料は排出口9より流出する。次に、第2図bの様にロータの位置を切換え、試料計量管39が電極11と接続孔38とに接続され、試料の濃縮と分析が開始するのである。

上記の試料の濃縮と分析及び洗浄の方法などは第3図のa~dによつて説明する。aでは、ステータ6, 7の間に設けたロータ8の試料計量管39に試料を計量する。次にbでは、電極11と接続孔38との間に試料計量管39を移動させ、例えば、試料中の分析対象の目的成分が⊕に帯電する物質であるならば、電極11を⊖電極とすることで、⊖の電極11側に分析対象の目的成分42等が濃縮されるのである。その次のcでは、電極の極性を反転させ、電極11は⊕電極とすることで各成分毎に電気泳動速度の差異等により分離分析が開始するのである。これらの分析が終了した後のdでは、ロータ8を切換えて第1図で説明した以外に、検出器側から液を流し、流路を洗

とができる。さらに、試料がキャピラリー1に導入された後、試料導入弁5を上述のように切り換えて、電極11又は電極14と電極25の間で、電気泳動以外に電気浸透流などを利用して分析することも可能である。この場合、試料導入弁5の構造を改造することにより、濃縮と分離の移動方向を同じにすることもできる。前記の試料導入弁5の詳細を第2図に示す。第2図aでは、ロータ8の両側にステータ6, 7を設け、スプリング37を介してボルト36で固定されている。該ステータ7には試料注入口10、電極11、配管12が設けてある。他方のステータ6には試料注入口10と電極11に向き合つて排出口9とキャピラリー1の接続孔38が設けてある。液ロータ8には上記の試料注入口10と排出口9に連通する試料計量管39、及び、接続孔38と電極11に連通する細孔40、電極11と配管12に連通する連通溝41が設けてある。

この試料導入弁5の動作は第2図aとbで説明する。オートサンプラのノズル17が試料注入口

10に接続され、試料が試料導入弁5に注入され、ロータ8の試料計量管39に満たされ、過剰の試料は排出口9より流出する。次に、第2図bの様にロータの位置を切換え、試料計量管39が電極11と接続孔38とに接続され、試料の濃縮と分析が開始するのである。

第4図は本発明の他の実施例であり、オートサンプラ16の基本構成は第1図と同様である。異なる部位はノズル17の構造であり、四フツ化エチレン樹脂等を用いたノズル17の中心に試料計量管の細孔45を設け、その流路の上部には逆L字形の流路部46が設けてある。該流路部46には導電性ポリマー44等を塗付した電極47、戻り位置用の板バネ48、液シール用のOリング49が設けてある。一方、該ノズル17の先端部をテーパ状にし、その形状に合致させたテーパ形腔み形状の接続部50を有するカセット支持体51が設けてある。該カセット支持体51の他方にはテーパ状の接続部3を有するカセット2のキ

キャピラリー 1 が接続され、該カセット支持体 5 1 にはノズル 1 7 の細孔 4 5 とキャピラリー 1 の流路を形成する連通孔 5 2 が設けてある。また、電極 4 7 の上部には接点用電極 5 3 が設けてある。上記の構成により、試料の導入部と濃縮部が構成されるのである。

上記の実施例による装置の動作について説明する。第 4 図の a では、オートサンプラ 1 6 の中でサンプルラック 1 8 の試料を分注ポンプ 2 0 でノズル 1 7 に任意の量を吸引する。次には、カセット支持体 5 1 の接続部 5 0 へノズル 1 7 の先端を接続する。続いて、第 4 図 b では、接点用電極 5 3 が電極 4 7 を押し下げ、板バネ 1 8 を変形させ、電極 4 7 が流路 4 6 を閉ざし、通電を開始すると試料中の目的成分 4 2 等が濃縮できるのである。他の手法等は第 1 図と第 3 図の実施例と同様である。上記実施例では、電極 4 7 を押し下げたが、他の方法、例えば、二方コック等を用いて流路を閉ざす方法等も有る。また、通電する際には、オートサンプラ 1 6 の三方弁 1 9 とノズル 1 7 の

流路を切り離すことも可能である。

これら本発明の装置は主要な部品を四フッ化エチレン樹脂で製作した。又、電極は全て白金線を用いた。しかし、これらの材質は一例であり、この装置の機能を満たすものであれば、他の材質もよい。

本発明によるキャピラリー電極移動装置の分析結果のクロマトグラムを第 5 図 b に示す。本発明の第 1 図の流路に基づいて構成した装置を用いて測定した。他の分析条件を表 1 に示す。

表 1

試料液	5mM アデノシン(A), グアノシン(G)
注入量	5 μ l
キャピラリー	100 μ m i.d. \times 500mm (検出器まで)
バッファ	0.1M 酢酸バッファ-pH3.5
電圧	20KV
検出器	U.V. 254nm

たて軸は吸光度、横軸には分析時間を示している。

第 5 図 a は、従来の試料注入方法で、重力を利用した落差式注入方法を用いた分析結果を示した。

試料注入の落差を 10 cm、注入時間を 5 秒とした。他の分析条件は表 1 と同じである。

以上の第 5 図 a、b を比較すると、本発明の感度は従来方法に比べて約 100 倍向上している。
〔発明の効果〕

本発明によれば、試料をキャピラリーに注入する前に、大量の試料のうち分析対象物質を電気泳動で十分な時間をかけて数 n l 以下の微小領域に濃縮でき、該微小領域の全分析対象物質をキャピラリーに注入することができるので、以下に記載されるような効果を奏する。

従来よりも百倍から一万倍の試料量を計量するので、試料導入誤差をなくし、試料導入精度を向上できる。また、従来よりも百倍以上の濃縮を行うため、分析感度が著しく向上できる。

4. 図面の簡単な説明

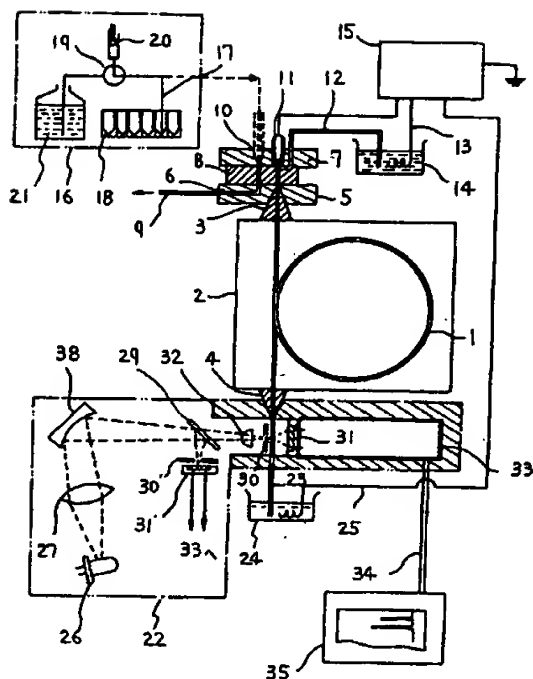
第 1 図は本発明の一実施例を示す流路構成図、第 2 図は第 1 図の試料導入弁の動作図、第 3 図は試料の濃縮、分析、洗淨方法などを示す図、第 4 図は本発明の他の実施例を示す試料導入を示す図、

第 5 図は本実施例による測定結果 (b) と従来例 (a) を比較したクロマトグラムを示す図である。
1…キャピラリー、2…カセット、3、4…接続部、5…試料導入弁、6、7…ステータ、8…ロータ、10…試料注入口、11、13、25、47…電極、12…配管、14、24…電極槽、15…高電圧電源、16…オートサンプラ、17…ノズル、18…サンプルラック、19…三方弁、20…分注ポンプ、22…検出器、23…石英キャピラリー、35…記録計、45…細孔、46…流路部、51…カセット支持体、53…接点用電極。

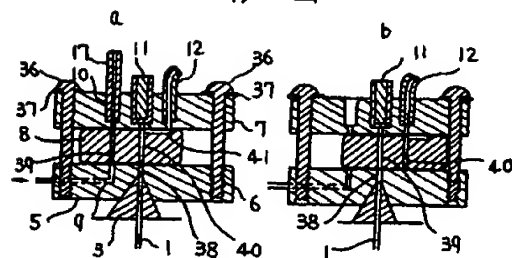
代理人 弁理士 小川勝



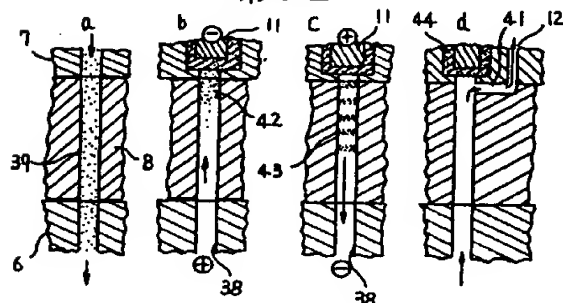
第1図



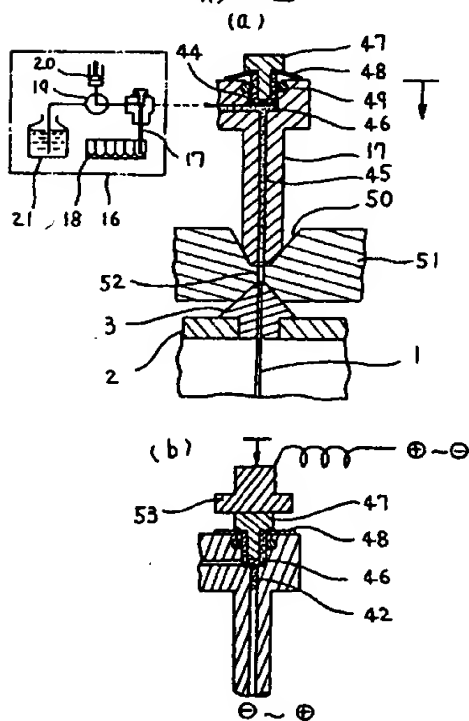
第2図



第3図



第4図



第5図

